

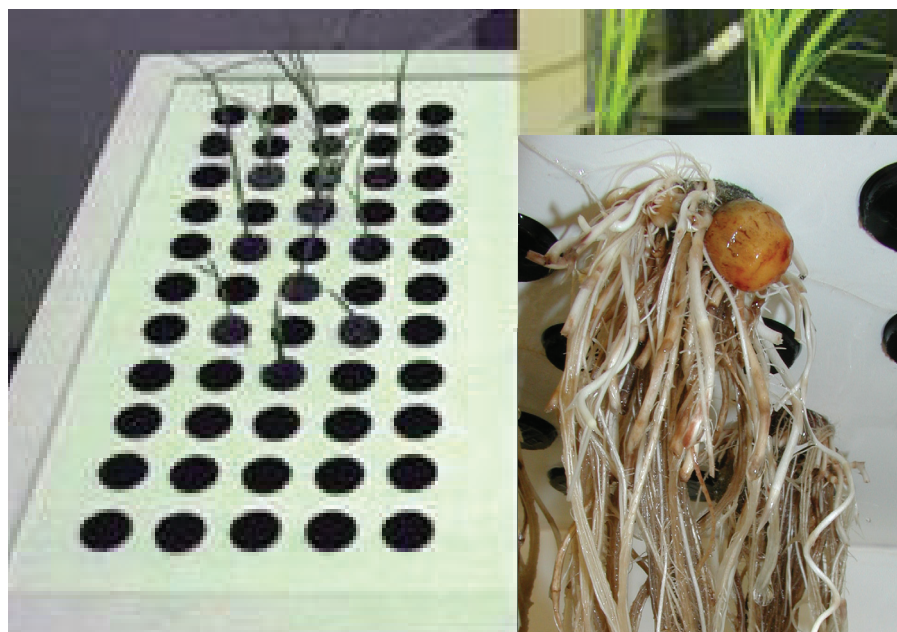
Oljeproducerande knölar! Karakterisering av olje och stärkelseupplagring i stamknölar hos jordmandel (*Cyperus esculentus*)

ANDERS CARLSSON

Vegetabilisk olja har en mängd olika användningsområden som livsmedel, foder, biobränsle (biodiesel) och råvara inom kemisk industri. Den ökande användningen av vegetabilisk olja för olika "non-food" ändamål kommer att kräva en kraftig ökning av den totala växtolja-produktionen. Detta kan delvis mötas genom att öka halten av olja i nuvarande oljegrödor. Ett dilemma är dock att så få oljegrödor står för en så stor andel av den totala produktionen. De fyra grödorna, oljepalm, sojaböna, raps och solros står för mer än 80% av den globala växtolja-produktionen. I Europa dominerar raps stort i norr och solros i söder vilket över tiden medför problem med uppkomst av resistent insekter och patogener. Detta begränsar också i hur ofta en areal kan användas för att producera olja. Att introducera nya oljegrödor med hög oljeavkastning är därför en mycket viktig utvecklingsväg för att öka den totala växtolja-produktionen.

Stärkelse till olja

Vid Institutionen för Växtförädling och Bioteknik pågår ett brett arbete med att undersöka olika vägar för att introducera oljeupplagrande förmåga i växter som normalt inte gör detta. En central del av forskningen handlar om att öka förståelsen av hur växter fördelar det i fotosyntesen producerade sockret till upplagring av fritt socker (i t.ex. sockerbeta), stärkelse (i t.ex. potatis, vete, majs) och olja (i t.ex. raps och solros). Identifiering av genetiska faktorer som ansvarar för fördelningen av upplagringsnäring ger unika möjligheter att utveckla nya och innovativa oljegrödor. Modifiering av till exempel traditionellt stärkelseupplagrande grödor skulle ge en kraftig ökning av producerad energi per arealenhet pga. oljans högre energitäthet. En annan vinst för odlaren med nya potentiella oljegrödor som t.ex. oljehavre, oljebeta eller oljepotatis, kommer från att fler oljeproducerande



Figur 1. Odling av jordmandel i ett aeroponiskt system i Biotronen, Alnarp. Vänster: Översida med nyplanterade jordmandel. Höger: Med öppet lock för inspektion av rötter, rhizom och stamknölar.

grödor kan inrymmas i en växtföljd vid sidan av raps.

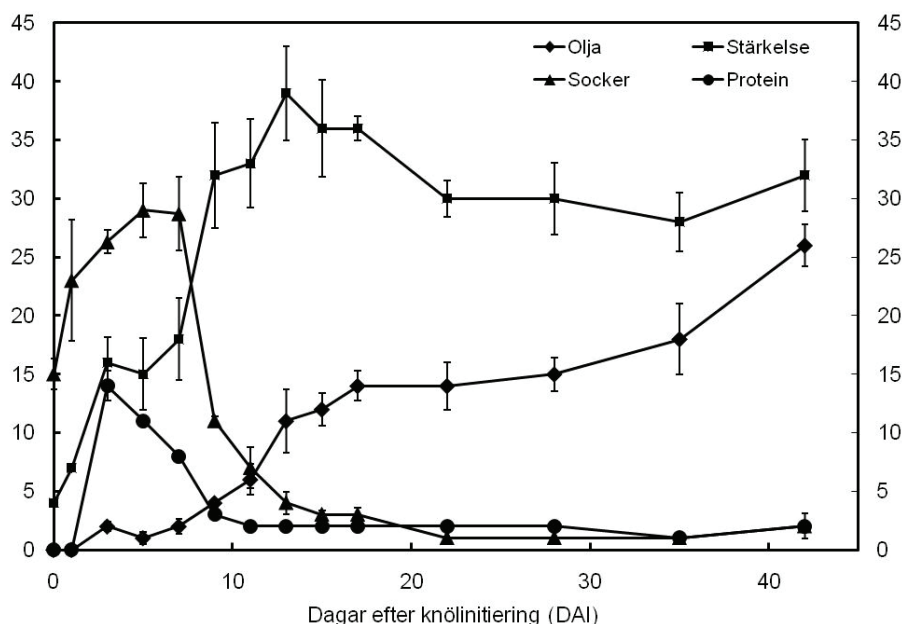
Jordmandel - en nygammal gröda som modell

Fröet är hos de flesta växter det främsta oljeupplagrande organet där oljan till största delen återfinns i embryot. Vissa växter lagrar också upp stora mängder olja i fruktköttet som i oljegrödorna oljepalm, avokado och oliv. Men vad gäller underjordiska lagringsorgan som rot och stamknölar finns det enligt vår kännedom bara en växt, nämligen jordmandeln (*Cyperus esculentus*), som använder dessa för att lagra upp stora mängder olja. Intressant nog lagrar den också upp höga halter av stärkelse och socker i samma stamknölar som oljan. Jordmandel är en växt som har sitt ursprung i Egypten (påträffat bland

4-5000 år gamla arkeologiska fynd) och historiskt har den återfunnits i stora delar av Nordafrika och runt Medelhavet. Under det senaste århundradet har den också spridits över flera kontinenter, där den idag betraktas som ett svårhanterbart ogräs inom jordbruket. Jordmandel finns som art dels som en vild variant, dels som en domesticerad, odlad variant. Det är den förstnämnda som ogräsproblematiken är förknippad med och den har dessutom knölar med ett lågt oljeinnehåll. De mycket höga oljehalter som beskrivs senare i artikeln, hittar man hos den odlade varianten som traditionellt har använts som födokälla och som i Europa fortfarande odlas kommersiellt inom ett snävt område runt Valencia i Spanien (för mer information se <http://www.tigernuts.com/>).



Figur 2. Initiering och utveckling av stamknölar hos jordmandel 0–9 DAI



Figur 3: Procentuellt innehåll av stärkelse, olja, socker och protein vid olika utvecklingsstadier av stamknölar hos jordmandel. Värden är beräknade per torrsvikt (dw) knöl.

Jordmandel – en modell

Vi studerar alltså möjligheter hos växten att lagra olja i vävnader som normalt inte lagrar olja, t.ex. vetekärnans endosperm eller i stam- eller rotknölar som potatis och sockerbeta. Det är av stort värde att studera växter där samma typ av vävnad finns, men som ackumulerar olja istället för stärkelse eller socker. Jordmandel är i detta avseende en unik växt och mycket lämplig som modell för framtida oljegrödor med oljelagrande stam eller rotknölar. Ge-

nom identifiering av reglerande gener för oljebiosyntesen i stamknölar hos jordmandel kan motsvarande gener till dessa identifieras i de grödor vi vill förändra. Med stöd av Partnerskap Alnarp och med stöd av och i samarbete med Syngenta har vi genomfört en första detaljerad undersökning av upplagringen av olja, stärkelse och socker i jordmandelns stamknölar. Detta inledande beskrivande arbete har inkluderat biokemiska och strukturella analyser av färdiga knölar och knölar under

utveckling. En närmare beskrivning av detta arbete redovisas nedan.

Odling och provtagning

I studierna av jordmandel har vi använt klimatkamrar i Biotronen utrustade med ett aeroponiskt odlingsystem (Figur 1). Detta medger kontrollerade odlingsbetingelser för den studerade växten av såväl klimat som tillförsel och upptag av näring. Utvecklingsmässigt bildas en stamknöl hos jordmandel genom att spetsen på ett rhizom börjar svälla upp (initiering) och stamknölen blir upp till 1,5 cm 42 dagar efter initieringen (Figur 2). Det kan tilläggas att en enskild planta bildar en stor mängd stamknölar. Upplagringen av lagringsnäring i stamknölar följdes genom att dessa skördades vid olika utvecklingsstadier och analyserades med avseende på stärkelse, olja, socker och protein. För mikroskopiska analyser av cellstrukturer och deponering av lagringsnäring skördades knölar vid 7, 15, 35 och 42 dagar efter initiering (DAI).

Variation i mängd upplagsnäring under stamknölsutveckling

Stamknölar uppvisade stora fluktuationer i innehållet av olika upplagsnäringsämnen under utvecklingen från 0 till 42 DAI (Figur 3). Under de första dagarnas utveckling skedde en stor ökning i upplagrat socker vars halt dock hastigt föll tillbaka till endast några få procent efter två veckor. Den hastiga minskningen av socker sammanföll

Tabell 1. Jämförelse av torrviktsprocenten hos Jordmandelknölar och några olika rot- eller knölupplagrande grödor.

	Torrvikt (%)
Morot	12
Sockerbeta	25
Potatis	27
Kassava	37
Jordmandel	58

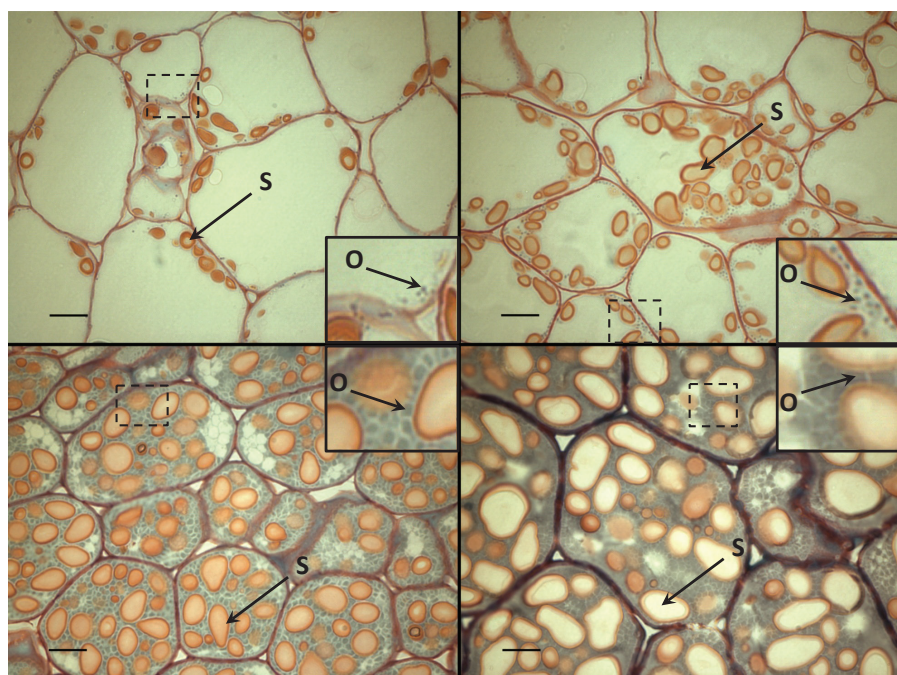
med en stor ackumulering av stärkelse till drygt 35 % av torrvikten (DW) och en inledning av oljeupplagring. Den fortsatta oljeupplagringen upp till drygt 25 % av DW verkade vara oberoende av sockerinnehållet som fortsatt var på en låg nivå fram till 42 DAI. I den aktuella studien följde vi knölutvecklingen till 42 DAI och innehållet av DW uppgick då till 32 % stärkelse, 27 % olja, 2 % socker and 2 % protein. Det är intressant att notera det låga innehållet av socker vid det sista utvecklingsstadiet i vår studie. Analys av mogna knölar från frilandsodlingar i Spanien visade sockerinnehåll på upp till 17 % och stärkelse och olja på ca 25 % vardera av DW. Vi tolkar detta som att sockerupplagringen i knölarerna sker relativt sent under knölutvecklingen antingen genom upplagring av intransporterat fritt socker eller som en omfördelning av kol från stärkelse till socker.

Analys av cellstrukturer i stamknölar

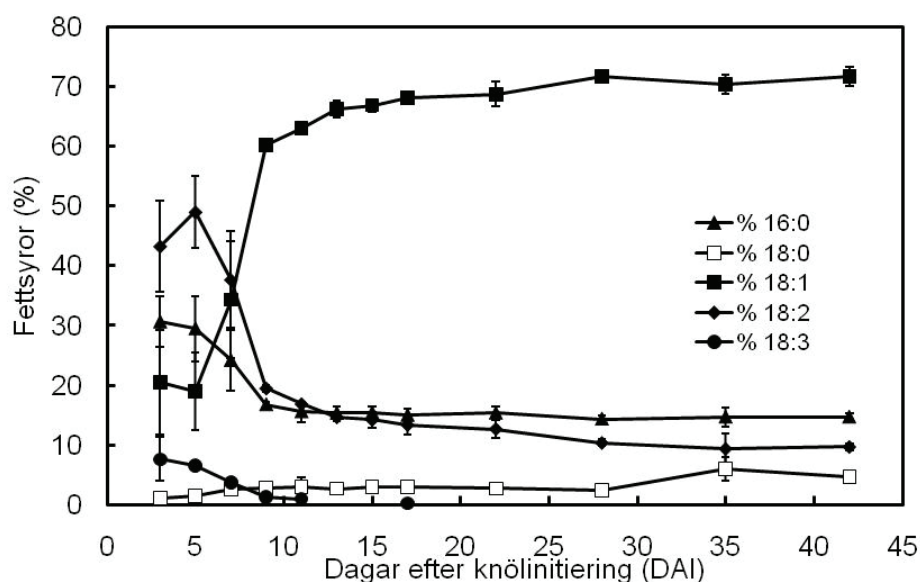
De strukturella studierna av stamknölar visade tydligt att olja och stärkelse är lokaliserade i samma celler och över hela knölarerna (Figur 4). Det var påtagligt hur cellerna vid de senare stadierna (35 och 42 DAI) var fullständigt utfyllda med stärkelsekorn och oljedroppar till en mycket hög täthet.

Två utvecklingsfaser

Sammantaget kan man dela in utvecklingen av jordmandelns stamknölar i en tidig (0-5 DAI) och en sen fas (från 7 DAI). Den tidiga fasen utmärks av en omvandling av rhizom från ett ledningskär till ett upplagringsorgan. En kraftig ökning av knölarnas friskvikt och endast en mindre ökning av torrvikten noterades under den tidiga fasen. En utveckling som påminner om ini-



Figur 4. Ljusbildningsbilder av jordmandelknölar vid A. 7, B. 15, C. 35 och D. 42 DAI. Olja syns som små gråaktiga kroppar vid 7 och 15 DAI och som tydliga grå kroppar vid 35 och 42 DAI. Stärkelsekorn är synliga som vitaktiga/rödaktiga strukturer. Mätstreckets motsvarar 10 µm. Områden inringade med streckad linje visas i inramad högre förstoring. Exempel på oljekroppar (O) och stärkelsekorn (S) är utmärkta.



Figur 5. Fettsyrasammansättning i olja från jordmandelns stamknölar vid olika utvecklingsstadierna. Värdena visas som procent av alla fettsyror.

tieringen av en potatisknöl. Under den senare fasen skedde däremot en påtaglig ökning av knölarnas torrsvikt. Dessutom lagrades en större del av både stärkelse och olja upp under denna fas. Det är uppenbart att en större förändring i knölarnas utveckling sker i perioden 7 ± 2 DAI mot bakgrund av de kraftiga fluktuationerna i upplagringsämnen och den förändring i oljekvalitet som uppvisades (Figur 5). Före 7 DAI har oljan en sammansättning av typisk cellmembran karaktär med högt innehåll av fosfolipider och relativt höga mängder av linolsyra. Över en mycket kort tidsperiod från 7 DAI förändras sedan oljans sammansättning till en typisk lagringskvalitet med ett högt innehåll av triacylglycerol och hög oljesyrahalt.

Hög torrsubstans

Knölarnas höga torrsubstanshalt hos jordmandel är intressant att notera. I jämförelse med några vanliga stam- och rotnöl-producerande grödor framstår jordmandel som något extra (Tabell 1). Jordmandelsknölarna kan dessutom efter torkning uppnå en torrsubstanshalt på mer än 95 % och kan i det skicket lagras under lång tid. Efter blötläggning klarar ändå jordmandel att skjuta nya skott vilket få andra knölproducerande grödor klarar av. Detta karaktärsdrag hos jordmandelns stamknölar påminner mer om lagringsegenskaper hos frön än av lagringsorgan hos knöl och rotnöl-producerande växter.

Framåtblick

Sammantaget har den aktuella studien bidragit med en utmärkt översikt av förändringen i innehållet av dominerande upplagringsämnen i stamknölar hos jordmandel. Undersökningen har visat på potentiellt intressanta utvecklingsstadier, t.ex. 7 ± 2 DAI, där vidare studier kan avslöja viktiga genetiska faktorer för regleringen av flödet av socker till olja respektive stärkelse. Masssekvensering av gener uttryckta vid två olika stadier (s.k. transkriptom analys) har också påbörjats (data genererat mha pyrosekvensering, 454). Fortsatta studier innefattar inmärkning med radioaktiva isotoper och utnyttjande av fluorescerande markörer för att följa sockrets väg under upplagring av förrådsprodukter. Vidare innefattar de detaljerad analys av erhållna data från sekvenseringen av transkriptom följt av karakterisering av genkandidater i modellsystem (potatis, arabidopsis eller jäst) och analys av specifika gener i rotnölar under utveckling. Dessutom kommer jämförande studier av jordmandelvarianter med hög oljehalt och vilda varianter med låg oljehalt att ytterligare underlätta arbetet med att identifiera viktiga reglerande genetiska faktorer av vikt för fördelningen av fotosyntesprodukter till olja respektive stärkelse. En ökad förståelse för detta bildar en bas för utvecklingsarbete av nya grödor med oljeupplagrande rotnölar. Här finns det potential – om man skulle skifta över all stärkelse

till olja i t.ex. en potatisknöl skulle detta motsvara en oljegröda som producerar 10 ton olja per hektar dvs. sex gånger mer än vad raps producerar. Då den upplagrade oljan och stärkelsen i jordmandelknölarna bildas av de ansevärliga mängder socker som transporteras ner från bladen till knölarna, kan studierna även ge insikt i hur en sockerupplagrande gröda som t.ex. sockerbeta kan modifieras till att lagra upp olja istället.

-
- Faktabladet är utarbetat inom LTJ-fakultetens Område 1, Växtförädling och Bioteknik
 - Faktabladet är finansierat av Partnerskap Alnarp och Syngenta Seeds AB
 - Projektansvarig: Anders S. Carlsson
 - Författare: Anders S. Carlsson
 - På webbadressen <http://epsilon.slu.se> kan detta faktablad hämtas elektroniskt